AUS DER MEDIZINISCHEN UNIVERSITÄTS-POLIKLINIK BASEL

BEITRAG ZUR KENNTNIS DER ZELLFERMENTE

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

DER

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER

UNIVERSITÄT BASEL

VORGELEGT

VON

SALOMO AL. TSCHERIKOWSKI

AUS POLTAWA (UKRAINA)

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

BERLIN UND LEIPZIG 1921

VEREINIGUNG WISSENSCHAFTLICHER VERLEGER
WALTER DE GRUYTER & Co.

vormals G. J. Göschen'sche Verlagshandlung — J. Guttentag, Verlagsbuchhandlung — Georg Reimer — Karl J. Trübner — Veit & Comp.

Von der medizinischen Fakultät Basel genehmigt auf Antrag von Prof. Dr. F. Egger.

(Sonderabdruck aus der Zeitschrift für physiologische Chemie Bd. CXI, 1920.)

C. A. Wagner, Buchdruckerei A.-G., Freiburg i. B.

Beitrag zur Kenntnis der Zellfermente.

Von

S. Tscherikowski.

(Aus der Medizinischen Universitäts-Poliklinik, Basel.)

Die Untersuchungen von Abderhalden und Mitarbeitern[1]) über die Spezifität der „Zellfermente" sind bisher nicht nachkontrolliert worden. Sie dienten zur Lösung folgender Fragen:

1. Besitzen bestimmte tierische Organe Fermente, welche in vitro ausschließlich die diesen Organen eigenen Proteine abbauen, dagegen nicht diejenigen anderer Organe bzw. Gewebe (organspezifisch)?
2. Ist diese Eigenschaft, wenn sie besteht, nicht nur durch das Organ, sondern auch durch die Tierart (artspezifisch) beschränkt?

Abderhalden und Mitarbeiter geben an, daß Mazerationssäfte (Zellferment) aus Leber, Muskel, Hoden, Gehirn, Thyreoidea organspezifisch wirken. Nierenmazerationssaft baute aber Nieren-, Leber- und Schilddrüsenpepton ab.

[1]) Abderhalden, Abwehrfermente, 4. Aufl., Springer (1914). — Abderhalden und Andor Fodor, Diese Zeitschr. Bd. 87, S. 220 (1913). — Abderhalden und Erwin Schiff, Diese Zeitschr. Bd. 87, S. 231 (1913). — Abderhalden, Ewald, Ishiguro und Watanabe, Diese Zeitschr. Bd. 91, S. 96 (1914).

In Anbetracht der Bedeutung dieser Fragen geben wir im folgenden die Resultate unserer Nachprüfung.

Versuchsanordnung.

Für unsere Versuche haben wir Organe frisch geschlachteter Tiere verwendet, und zwar von Kaninchen, Pferden und Kälbern. Die Organe wurden unmittelbar nach dem Schlachten entnommen, zerhackt und sogleich unter fließendem Wasser zur Entfernung des Blutgehaltes verarbeitet. Wir sind den Vorschriften Abderhaldens ziemlich genau gefolgt. Für die Bereitung der Organsäfte wurde das vom Blute möglichst befreite Organ mit der dreifachen Menge physiologischer Kochsalzlösung im Brutschrank bei 37° unter Toluolzusatz mazeriert; nach 3—4 Stunden wurde filtriert und das Filtrat verworfen. Das Substrat wurde mit physiologischer Kochsalzlösung kurz geschüttelt; nach Filtration kam das Organ mit einer zweifachen Menge physiologischer Kochsalzlösung unter Toluolzusatz für 12—14 Stunden in den Brutschrank. Nach Ablauf dieser Zeit wurde filtriert und das Filtrat sofort unter Toluol gebracht und aufbewahrt; dies hatte meistens einen hellgelben Stich und war unmittelbar nach dem Filtrieren klar, manche Säfte nahmen bei längerem Aufbewahren eine leichte Opaleszenz an. Wir haben Säfte aus Leber, Niere und Muskeln von Pferd, Kalb und Kaninchen hergestellt. Zur Bereitung der Organpeptone wurde das zerhackte und entblutete Organ in die dreifache Menge eiskalter, 70%iger Schwefelsäure gebracht und das Gemisch 2—3mal 24 Stunden hindurch bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Wir haben die Erfahrung gemacht, daß, je länger das Substrat sich in Schwefelsäure befand, desto geringer das Drehungsvermögen des betreffenden Peptons war. Deshalb haben wir als Maßstab den Zeitpunkt gewählt, bei welchem der Organbrei in der Säure sich völlig aufgelöst hatte; dies war gewöhnlich nach 2 Tagen vollzogen. Zur Beschleunigung des Prozesses wurde das Gemisch öfters geschüttelt. Nun wurde das Hydrolysat in die 8—10fache Menge Eiswasser gegossen und die Säure mit Baryumhydroxyd möglichst rasch und genau neutralisiert. Es wurde dann durch

ein vierfaches Filter filtriert; das Filtrat war stets klar und etwas gelblich. Es wurde sogleich im Vakuum bei 40° verdampft. Der Rückstand wurde mit 2—5 ccm destilliertem Wasser angefeuchtet und sogleich mit siedendem Methylalkohol ausgezogen; der Auszug wurde mit Methylalkohol und Äther gefällt. Die Menge des Alkohols und des Äthers wurde derart bemessen, daß wir eine möglichst voluminöse Fällung erhielten; letztere war stets schneeweiß, wurde gleich abgenutscht und im Exsikkator über Schwefelsäure getrocknet. Mit dem getrockneten Pepton wurde eine 10%ige Lösung hergestellt; als Lösungsmittel verwendeten wir eine physiologische Kochsalzlösung; die Flüssigkeit wurde unter Toluol aufbewahrt.

Auf diese Weise haben wir Peptone von Pferdeniere, -leber und -muskulatur, von Kalbsniere und Kalbsleber hergestellt.

Zur Prüfung der Fermentwirkung haben wir die optische Methode als die zuverlässigste gewählt. Ein sehr gutes Polarimeter stand uns zur Verfügung. Als Polarisationsrohr dienten uns Abderhaldensche Röhrchen von 2 ccm Inhalt und mit Wassermantel. (Der Brutschrank, in welchem die Röhrchen während der Versuchszeit aufbewahrt wurden, stand in der Nähe des Polarimeters.) Die polarimetrischen Ablesungen wurden wiederholt von 2 Beobachtern unabhängig voneinander gemacht.

In allen Fällen haben wir 1 ccm Mazerationssaft mit 1 ccm Peptonlösung versetzt und in einem Reagenzglas geschüttelt; gleich darauf wurde die Mischung in das Polarisationsrohr getan, welches in den Brutschrank gebracht wurde, und zum erstenmal nach 1 Stunde polarisiert.

Kontrollversuche ergaben uns wiederholt, daß Peptonlösung allein, Mazerationssaft allein, Mazerationssaft + physiologischer Kochsalzlösung, Peptonlösung + physiologischer Kochsalzlösung im Brutschrank nach 24 Stunden und länger keine Veränderung des Drehungsvermögens zeigten.

Erste Versuchsreihe.

Peptone und Säfte derselben Tierart.

Präparate vom Pferd.

Tabelle I.

	Beobachtungszeit Stunden	1 ccm Leber-Mazer.-Saft[1]) mit		
		1 ccm Leber-Pept.	1 ccm Muskel-Pept.	1 ccm Nieren-Pept.
1)	1	—0,31	—0,34	—0,30
	5	—0,26	—0,33	—0,29
	7	—0,25	—0,32	—0,30
	22	—0,22	—0,32	—0,30
	72	—0,22	—0,33	—0,29
2)	1	—0,30	—0,34	—0,29
	5	—0,26	—0,33	—0,27
	7	—0,25	—0,33	—0,27
	26	—0,25	—0,34	—0,25
	48	—0,23	—0,32	—0,26
3)	1	—0,30	—0,35	—0,30
	5	—0,25	—0,33	—0,28
	22	—0,21	—0,32	—0,29
	48	—0,21	—0,32	—0,30

Tabelle II.

	Beobachtungszeit Stunden	1 ccm Nieren-Mazer.-Saft mit		
		1 ccm Leber-Pept.	1 ccm Nieren-Pept.	1 ccm Muskel-Pept.
4)	1	—0,29	—0,48	—0,32
	4	—0,26	—0,40	—0,31
	6½	—0,26	—0,41	—0,31
	8½	—0,27	—0,39	—0,32
	24	—0,25	—0,37	—0,29

[1]) Für sämtliche Tabellen gelten folgende Abkürzungen: Mazerationssaft = Mazer.-Saft = M.-S., Pept. = Pepton.

Tabelle II (Fortsetzung).

	Beobachtungszeit Stunden	1 ccm Nieren-Mazer.-Saft mit		
		1 ccm Leber-Pept.	1 ccm Nieren-Pept.	1 ccm Muskel-Pept.
5)	1	—0,30	—0,51	—0,30
	4	—0,27	—0,47	—0,29
	6	—0,26	—0,44	—0,27
	9	—0,24	—0,36	—0,28
	40	—0,22	—0,32	—0,23
6)	1	—0,30	—0,52	—0,31
	$2^1/_2$	—0,28	—0,45	—0,31
	5	—0,25	—0,41	—0,27
	7	—0,24	—0,43	—0,27
	$8^1/_2$	—0,23	—0,41	—0,26
	24	—0,22	—0,35	—0,25
7)	1	—0,29	—0,50	—0,30
	3	—0,26	—0,45	—0,27
	$5^1/_2$	—0,24	—0,42	—0,26
	9	—0,23	—0,38	—0,25
	22	—0,22	—0,32	—0,24

Tabelle III.

	Beobachtungszeit Stunden	1 ccm Pferdenieren-Pepton mit		
		1 ccm physiol. Kochsalzlösung	1 ccm Leber-M.-S.	1 ccm Muskel-M.-S.
8)	1	—0,47	—0,44	—0,45
	4	—0,46	—0,46	—0,46
	6	—0,46	—0,44	—0,47
	8	—0,46	—0,44	—0,46
	25	—0,46	—0,42	—0,46
9)	1	—0,45	—0,44	—0,46
	2	—0,44	—0,44	—0,45
	$4^1/_2$	—0,45	—0,44	—0,45
	$7^1/_2$	—0,46	—0,45	—0,46
	22	—0,45	—0,43	—0,45

Tabelle III (Fortsetzung).

	Beobachtungszeit Stunden	1 ccm Pferdenieren-Pepton mit		
		1 ccm physiol. Kochsalzlösung	1 ccm Leber-M.-S.	1 ccm Muskel-M.-S.
10)	1	—0,47	—0,45	—0,47
	2	—0,45	—0,46	—0,45
	6	—0,46	—0,44	—0,45
	$7^1/_2$	—0,45	—0,45	—0,46
	9	—0,47	—0,45	—0,47
	23	—0,46	—0,45	—0,46

Weitere Versuche haben wir mit Präparaten aus Pferdemilz, ferner mit Pepton und Mazerationssaft von Kalbs- und Kaninchenorganen ausgeführt. Pferdemilzmazerationssaft verhielt sich wie Lebermazerationssaft. Die Resultate mit Kalbs- und Kaninchenorganen entsprechen genau denjenigen mit Pferdegewebe.

Die Ergebnisse dieser ersten Versuchsreihe bestätigen die Angabe Abderhaldens, daß Nierenmazerationssaft alle möglichen Peptone abzubauen vermag. Lebermazerationssaft baut dagegen so gut wie ausschließlich Leberpepton ab. Die Beobachtung Abderhaldens und Mitarbeiter, daß Lebersaft Muskelpepton abbauen kann, konnten wir in keinem einzigen Versuche bestätigen.

Muskelmazerationssaft und Milzmazerationssaft verhielten sich genau wie Lebermazerationssaft; sie bauten nur das organeigene Pepton ab.

Zweite Versuchsreihe.

Organpeptone mit artfremden Säften.

Tabelle IV.

	Beobachtungszeit Stunden	1 ccm Pferdenieren-Pepton mit		
		1 ccm Pferdeniere-M.-S.	1 ccm Kalbsniere-M.-S.	1 ccm Pferdeleber-M.-S.
11)	1	—0,53	—0,52	—0,52
	2	—0,48	—0,50	—0,50
	6	—0,42	—0,45	—0,49
	24	—0,36	—0,36	—0,52
	70	—0,34	—0,32	—0,51

Tabelle IV (Fortsetzung).

	Beobachtungszeit Stunden	1 ccm Pferdenieren-Pepton mit		
		1 ccm Pferdeniere-M.-S.	1 ccm Kalbsniere-M.-S.	1 ccm Pferdeleber-M.-S.
12)	1	—0,55	—0,54	—0,51
	2	—0,55	—0,52	—0,51
	3	—0,52	—0,46	—0,51
	6	—0,51	—0,44	—0,53
	8	—0,50	—0,43	—0,51
	23	—0,42	—0,36	—0,49
13)	1	—0,51	—0,52	—0,52
	$2^1/_2$	—0,48	—0,49	—0,52
	6	—0,44	—0,44	—0,50
	8	—0,43	—0,41	—0,50
	24	—0,40	—0,38	—0,49
14)	1	—0,52	—0,52	—0,52
	2	—0,48	—0,48	—0,50
	4	—0,48	—0,44	—0,51
	$6^1/_2$	—0,47	—0,42	—0,52
	8	—0,46	—0,42	—0,51
	24	—0,41	—0,36	—0,50

Tabelle V.

	Beobachtungszeit Stunden	1 ccm Kalbsnieren-Pepton mit		
		1 ccm Kaninchenniere-M.-S.	1 ccm Pferdeniere-M.-S.	1 ccm Kalbsleber-M.-S.
15)	1	—0,36	—0,35	—0,42
	$3^1/_2$	—0,35	—0,32	—0,42
	5	—0,34	—0,32	—0,40
	$6^1/_2$	—0,32	—0,30	—0,41
	22	—0,26	—0,26	—0,39

Tabelle V (Fortsetzung).

Beobachtungszeit Stunden		1 ccm Kalbsnieren-Pepton mit		
		1 ccm Kalbsniere-M.-S.	1 ccm Pferdeniere-M.-S.	1 ccm Kalbsleber-M.-S.
16)	1	—0,38	—0,37	—0,38
	3	—0,31	—0,34	—0,33
	5	—0,27	—0,33	—0,34
	8	—0,27	—0,31	—0,34
	26	—0,20	—0,26	—0,34
17)	1	—0,37	—0,38	—0,38
	2	—0,34	—0,37	—0,38
	6	—0,34	—0,36	—0,38
	18	—0,27	—0,32	—0,37
	21	—0,23	—0,31	—0,34
	24	—0,24	—0,28	—0,33

Tabelle VI.

Beobachtungszeit Stunden		1 ccm Pferdenieren-Pept. + Kaninchenniere-M.-S.	1 ccm Kalbsnieren-Pept. + Kaninchenniere-M.-S.	1 ccm Kalbsleber-Pept. + Kaninchenleber-M.-S.
18)	1	—0,49	—0,38	—0,35
	2	—0,46	—0,36	—0,32
	4½	—0,43	—0,33	—0,30
	7	—0,42	—0,32	—0,30
	22	—0,41	—0,31	—0,28

Beobachtungszeit Stunden		1 ccm Kaninchenniere-M.-S. + Pferdenieren-Pept.	1 ccm Kalbsleber-M.-S. + Pferdeleber-Pept.	1. ccm Kalbsleber-M.-S. + Kalbsleber-Pept.
19)	1	—0,50	—0,40	—0,36
	3	—0,45	—0,38	—0,35
	7	—0,42	—0,36	—0,33
	24	—0,34	—0,29	—0,29

Tabelle VI (Fortsetzung).

	Beobachtungszeit Stunden	1 ccm Kaninchenniere-M.-S. + Pferdenieren-Pept.	1 ccm Kaninchenniere-M.-S. + Kalbsnieren-Pept.	1 ccm Kaninchenleber-M.-S. + Pferdenieren-Pept.
20)	1	—0,48	—0,39	—0,52
	2	—0,45	—0,37	—0,50
	4	—0,44	—0,34	—0,51
	17	—0,36	—0,26	—0,51
	22	—0,33	—0,24	—0,52

	Beobachtungszeit Stunden	1 ccm Pferdenieren-Pept. + Kaninchenniere-M.-S.	1 ccm Kalbsnieren-Pept. + Kaninchenniere-M.-S.	1 ccm Kalbsnieren-Pept. + Kaninchenleber-M.-S.
21)	1	—0,50	—0,40	—0,39
	2	—0,51	—0,38	—0,37
	4	—0,47	—0,36	—0,38
	6	—0,44	—0,32	—0,36
	8	—0,43	—0,31	—0,37
	24	—0,37	—0,21	—0,38

Eine größere Anzahl Versuche verliefen gleich wie die hier mitgeteilten.

Ergebnis. Nierenmazerationssaft (Pferd, Kalb, Kaninchen) baut sowohl artfremdes wie arteigenes Pepton aus Niere, Leber, Muskel ab. Leber-, Muskel-, Milzmazerationssäfte bauen nur organspezifisches Pepton ab. Eine Artspezifität ist nicht nachweisbar.

Die in diesen Versuchen beobachteten Vorgänge stellen nichts anderes als autolytische Prozesse dar. Abderhalden hat aus seinen Resultaten, die wir im ganzen bestätigen konnten, den Schluß gezogen, daß die Zellfermente eine spezifische Wirkung ausüben. Diese Annahme hatte schon Jacoby[1]) aufgestellt. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen

[1]) Jacoby, Hofmeister's Beiträge Bd. 3, S. 448 (1903).

beweisen bzw. bestätigen nur, daß die Peptone der verschiedenen Organe in ihrer chemischen Struktur verschieden sein müssen. Eine Spezifität der Zellfermente braucht nicht zwingend angenommen zu werden. Physiologisch besonders interessant ist die sehr aktive, nicht organspezifische Wirkung des Nierenmazerationssaftes.

Zum Schluß danke ich meinem verehrten Chef, Herrn Prof. Egger, bestens für das meiner Arbeit entgegengebrachte Interesse und für die freundliche Überlassung des Versuchsmaterials. Es ist mir ferner eine angenehme Pflicht, Herrn Privatdozent Dr. Gigon meinen herzlichsten Dank auszusprechen für die Anregung zu den vorstehenden Untersuchungen und für die unermüdliche Unterstützung, die er meiner Arbeit angedeihen ließ.